动 物 学 研 究 2005, Apr. 26 (2): 184-189 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

三疣梭子蟹胚胎期中枢神经系统的发生和发育

薛俊增
(杭州师范学院 生命科学学院, 浙江 杭州 310036, jzxue@hztc.edu.cn)

摘要: 应用组织学方法研究三疣梭子蟹胚胎期中枢神经系统的发生和发育, 光学显微镜下镜检切片, 在第二期卵内无节幼体阶段开始观察到脑; 第二期卵内溞状幼体阶段, 前脑由视神经层、侧原脑和中央原脑组成, 与位于食道两侧的中脑和后脑形成完整的脑。三疣梭子蟹胚胎期腹神经链由1对大颚、2对小颚和2对颚足所对应的神经节以及腹部神经链组成。光镜下大颚神经节可于第二期卵内无节幼体阶段观察到, 2对小颚和2对颚足神经节则在第二期卵内溞状幼体阶段观察到; 腹部神经链则在第三期卵内溞状幼体阶段观察到。三疣梭子蟹胚胎期中枢神经系统由脑和腹神经链组成, 脑由前脑、中脑和后脑组成, 脑位于背部, 通过2条围食道神经与腹神经链相连。中枢神经系统的不同部分的形成在胚胎发育过程中具有阶段性差异。

关键词: 三疣梭子蟹; 胚胎发育; 中枢神经系统
中图分类号: Q959.223.63 **文献标识码**: A **文章编号**: 0254-5853 (2005) 02-0184-06

Neurogenesis and Development of the Central Nervous System in the Embryo Stage of Swimming Crabs, *Portunus trituberculatus*

XUE Jun-zeng
(School of Life Sciences, Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China)

Abstract: Neurogenesis and development of the central nervous system in the embryo stage of swimming crabs, *Portunus trituberculatus*, were studied by the histological method. The brain appeared at the egg-nauplius stage Ⅱ and was composed of protocerebrum, deutocerebrum and tritocerebrum under microscope. The protocerebrum was composed of lamina ganglionaris, lateral protocerebrum and medial protocerebrum at the egg-zoea stage Ⅱ, and olfactory lobe appeared and arranged beside the esophagus with deutocerebrum and tritocerebrum. The ventral nerve cord of the crab in the embryo included 1 pair mandibular neuromere, 2 pairs neuromeres of maxillae, 2 pairs neuromeres of maxillipede and abdomen nerve cord. Under microscope, the mandibular neuromere appeared at the egg-nauplius stage Ⅱ, the neuromeres of maxillae and neuromeres of maxillipede appeared at the egg-zoea stage Ⅱ, and the abdomen nerve cord formed at the egg-zoea stage Ⅲ. The central nervous system was composed of brain and ventral nerve cord in the embryo stage of the swimming crab. The brain was composed of protocerebrum, deutocerebrum and tritocerebrum. The brain connected to the suboesophageal ganglia with circumoesophageal fibre. The forming time of the part of the central nervous system showed difference in the embryonic development.

Key words: *Portunus trituberculatus*; Embryonic development; Central nerve system

三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 在我国沿海广泛分布, 是重要的经济蟹类, 其胚胎方面的研究已有较多报道 (Sun et al, 1984; Xue, 1998; Xue et al, 1998, 2001a, b, c)。其发育与其他海洋蟹类相似, 胚胎发育和胚后发育都经历幼体变态过程 (Liao et al, 2001; Sun et al, 1984; Xue et al, 2001a)。

蟹类胚胎发育和胚后发育过程中经历卵内无节幼体、卵内溞状幼体、溞状幼体、大眼幼体、幼蟹和成蟹等阶段, 不同阶段其形态有一定的差异 (Is-

收稿日期: 2004-08-11; 接受日期: 2004-12-22
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39370089); 浙江省动物学重点扶植学科资助项目 (030201)

lam et al, 2004; Williamson, 1982; Du, 1992; Liao et al, 2001; Xue et al, 2001a)，中枢神经系统的结构也会随之变化。蟹类溞状幼体和大眼幼体由于腹部尚未退化，在体形上类似（Islam et al, 2004; Sun et al, 1984)；其中枢神经系统的结构也类似，都为梯状神经系统，神经节不愈合（Harzsch & Dawirs, 1994)。大眼幼体变态成幼蟹后由于腹部的退化导致形态发生较大变化（Du, 1992)，幼蟹到成蟹的中枢神经系统的结构也随之发生变化，食道下神经节、胸神经节和腹神经结愈合成1个大的腹神经团代替了前一阶段的梯状中枢神经（Harzsch & Dawirs, 1994; Sandeman, 1982; Du, 1992)。

卵内溞状幼体与孵化后自由生活的溞状幼体在形态上虽然类似，但由于发育阶段的不同以及与外界环境的隔绝，尚不具备与神经密切相关的感觉、运动、摄食和避敌等功能和行为；那么，其中枢神经系统的结构与自由生活的溞状幼体是否存在差异呢？同时，蟹类神经系统的发生及早期发育在胚胎期即已进行，但一直缺乏系统的研究。本文旨在研究三疣梭子蟹胚胎期中枢神经系统的发生和发育，以回答上述问题，并为蟹类神经系统的系统研究增加相关资料。

1 材料和方法

实验于1996年4—6月在宁波大学竹头苗种场进行，亲蟹购自浙江鄞县咸祥农贸市场与浙江舟山沈家门水产市场。实验期间水温依赖于自然温度（12.0～19.8 ℃)，盐度在20～25，每天换水二分之一，以杂鱼、虾及贝类为饵料投喂亲蟹。雌蟹产卵后，视不同发育阶段，每隔12、24、48 h取卵一次，用Bouin's液固定24 h，保存于70%的酒精中。石蜡切片，H.E.染色，Olympus显微镜观察并拍照。

2 结 果

三疣梭子蟹胚胎期中枢神经系统由脑和腹神经链组成。脑位于背部，通过2条围食道神经与腹神经链相连。

2.1 脑

三疣梭子蟹胚胎期脑由前脑、中脑和后脑组成。光镜下观察脑能被识别判定时在第二期卵内无节幼体阶段。

第二期卵内无节幼体阶段前脑被称为原脑，与中脑和后脑同侧神经节依次连接，但相互并不愈合（图1)；原脑长棒状，前后有2个凸起，为原脑前端神经凸起和原脑后端神经凸起（图2)；原脑和中脑左右两部分分别以原脑中央脑桥和中脑中央脑桥相连（图3)。到第一期卵内溞状幼体阶段，这3对神经节进一步发育，但仍未愈合，原脑中央脑桥发育为哑铃状（图4)。胚胎发育到第二期卵内溞状幼体阶段，伴随着视觉器官的发育，出现了视网膜（retina）和视神经层（lamina ganglionaris）（图5)，原脑也进一步发育为侧原脑（lateral protocerebrum）和中央原脑（medial protocerebrum）（图6)，侧原脑由视外髓（medulla externa)、视内髓（medulla interna）和视端髓（medulla terminalis）3部分组成（图6)，因而前脑由视神经层、侧原脑和中央原脑组成；嗅叶出现，靠近中脑中央部分膨大（图7)，中脑、后脑和中脑嗅叶位于食道两侧（图8)，至此在组成上形成完整的脑。在第三期卵内溞状幼体阶段脑的各部分进一步发育增大（图9—10)。在胚胎孵化前，虽然脑的3个部分连接紧密，但未完全愈合，中脑和后脑及其之间的神经连接构成了围食道神经的一部分（图8)，因而胚胎期的围食道神经与成体的围食道神经在组成上是有差异的。

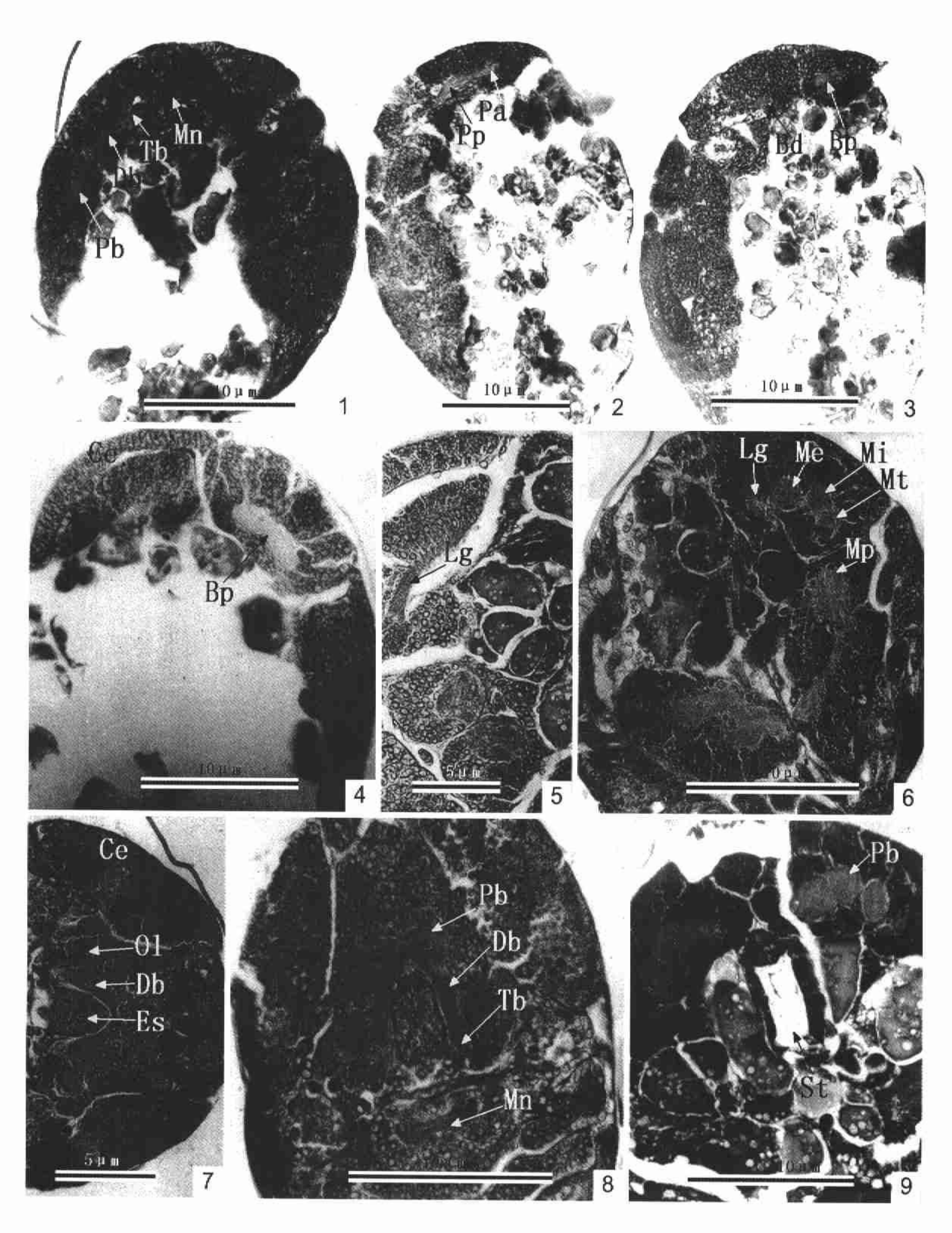
2.2 腹神经链

三疣梭子蟹胚胎期腹神经链由大颚、2对小颚和2对颚足所对应的神经节以及腹部神经链组成。

光镜下观察胚胎组织切片，大颚神经节形态发生于第二期卵内无节幼体阶段，与后脑相连，但无明显膨大部分（图1)，在卵内溞状幼体阶段位于食道下（图8，11)，上与后脑相连，下与第一小颚神经节相连（图12)。2对小颚和2对颚足神经节形态发生于第二期卵内溞状幼体阶段，但神经节膨大不显著（图13—14)，胚胎发育至第三期卵内溞状幼体时，这4对神经节显著膨大（图10，12)。大颚神经节、小颚神经节和颚足神经节前后相连成链，每一神经节处又有神经连接桥将左右链相连（图12，14)。胚胎孵化前另外几对胸部附肢虽未明显出现，但在第二颚足与腹部之间的胸腹生长处，已有另外6对胸部附肢的神经节连成念珠状（图10)。腹部神经链在第三期卵内溞状幼体阶段形成，较胸部神经细小，节点不突出，两条腹神经索左右不连接（图15)。

3 讨 论

无节幼体是大多数甲壳动物发育过程中所具有的最简单和最原始的幼体（Du，1987；Williamson，1982）。自由生活的无节幼体，由于运动、感觉和摄食等的需要，中枢神经主要由与视觉器官和3对附肢对应的神经节组成（Walley，1969）；三疣梭子蟹无节幼体是在胚胎内完成的，虽然不能自由生活，但附肢和视叶发育正常（Xue et al，2001a），因而对应的脑神经和大颚神经节在第二期卵内无节幼体阶段显示出相应的形态。蟹类从溞状幼体发育为大眼幼体和从大眼幼体发育为幼蟹的过程中，经历了2次重要的变态，形态和行为都发生了重大改变，伴随着腹部的退化和头胸部的高度愈合，神经系统的结构也发生相应变化，从幼体期的梯状神经系统演变为幼蟹和成蟹时的团状神经（Harzsch &



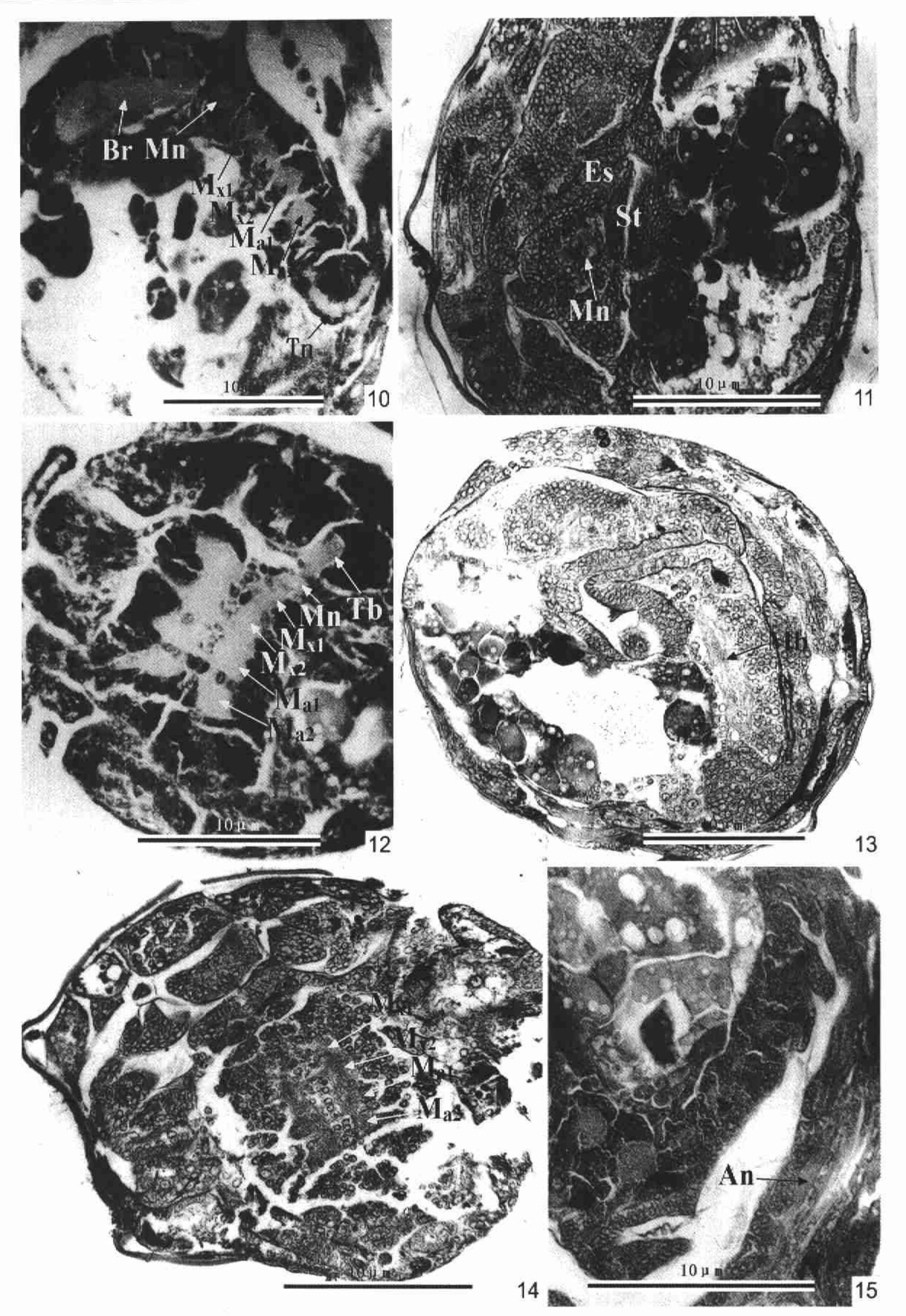


图 1-15 三疣梭子蟹胚胎期中枢神经系统的形态

Figs. 1-15 Morphometrics of central nervous system in swimming crabs, *Portunus trituberculatus* at embryo stage

An：腹部神经链（Abdomen nerve cord）；Bd：中脑中央脑桥（Central bridge of deutocerebrum）；Bp：原脑中央脑桥（Central bridge of protocerebrum）；Br：脑（Brain）；Ce：复眼（Compound eye）；Db：中脑（Deutocerebrum）；Es：食道（Esophagus）；Lg：视神经层（Lamina

ganglionaris); Ma_1: 第一颚足神经节 (Nerve ganglion of 1st maxillipede); Ma_2: 第二颚足神经节 (Nerve ganglion of 2nd maxillipede); Mb: 颚足神经节 (Nerve ganglion of maxillipede); Me: 侧原脑视外髓 (Medulla externa of lateral protocerebrum); Mn: 大颚神经节 (Nerve ganglion of mandible); Mi: 侧原脑视内髓 (Medulla interna of lateral protocerebrum); Mp: 中央原脑 (Medial protocerebrum); Mt: 侧原脑视端髓 (Medulla terminalis of lateral protocerebrum); Mx_1: 第一小颚神经节 (Nerve ganglion of 1st maxillae); Mx_2: 第二小颚神经节 (Nerve ganglion of 2nd maxillae); Ol: 嗅叶 (Olfactory lobe); Pa: 原脑前端神经突 (Anterior protocerebrum); Pb: 原脑 (Protocerebrum); Pp: 原脑后端神经突 (Posterior protocerebrum); St: 胃 (Stomach); Tb: 后脑 (Tritocerebrum); Tn: 胸神经节 (Nerve ganglion of thorax)。

1-3. 第二期卵内无节幼体 (Egg-nauplius stage Ⅱ); 4. 第一期卵内溞状幼体 (Egg-zoea stage Ⅰ); 5-8. 第二期卵内溞状幼体 (Egg-zoea stage Ⅱ); 9-10. 第三期卵内溞状幼体 (Egg-zoea stage Ⅲ); 11. 第二期卵内溞状幼体 (Egg-zoea stage Ⅱ); 12. 第三期卵内溞状幼体 (Egg-zoea stage Ⅲ); 13-14. 第二期卵内溞状幼体 (Egg-zoea stage Ⅱ); 15. 第三期卵内溞状幼体 (Egg-zoea stage Ⅲ)。

Dawirs, 1994; Sandeman, 1982; Du, 1992)。节肢动物神经系统与其体节的分布、附肢的组成有密切的关系 (Dove & Stollewerk, 2003), 并与附肢和有关器官的功能也有密切关系 (Harrison & Sandeman, 1999)。三疣梭子蟹卵内溞状幼体虽不能营自由生活, 但已具有7对附肢和相关的身体分节 (Xue et al, 2001a), 本研究表明其中枢神经系统的结构也与之相对应。

普通滨蟹 (*Carcinus maenas*) 成体神经系统的大部分结构在第一期溞状幼体阶段就已出现, 只是标志性的神经节的融合在幼体期尚未完成 (Harzsch & Dawirs, 1994)。三疣梭子蟹胚胎发育至卵内溞状幼体阶段, 中枢神经系统由脑和腹神经链组成, 脑位于背部, 由前脑、中脑和后脑组成, 通过2条围食道神经与腹神经链相连, 腹神经链左右链神经节未联合, 与蛛形蛤蟆蟹 (*Hyas araneus*) 第一期溞状幼体的中枢神经系统结构相似 (Harzsch & Dawirs, 1994; Harzsch et al, 1998)。三疣梭子蟹卵内溞状幼体附肢的组成与自由生活的第一期溞状幼体基本一致 (Sun et al, 1984; Xue et al, 2001a), 我们认为其神经系统的组成也应有较大的一致性。

有关甲壳动物成体神经系统的研究, 自19世纪就备受重视 (Harzsch & Dawirs, 1994); 然而有关幼体神经系统的研究在20世纪90年代才逐步开展, 虽然研究内容在生物学新技术的支撑下逐渐深入(Harrison & Sandeman, 1999; Harzsch & Dawirs, 1993, 1994; Harzsch et al, 1998; Harzsch, 2001), 但是对胚胎期神经系统的发生和发育的研究仍然较少。由于大部分蟹类在发育过程中存在变态现象, 变态导致幼体 (包括卵内幼体) 与成体在形态和行为上存在较大差异, 同时神经系统的结构也发生变化, 故该类动物是研究神经发生和神经再组织的极好材料 (Harzsch & Dawirs, 1994)。不同甲壳动物胚胎期经历了不同的卵内幼体阶段 (Du, 1987), 应用生物学新技术进一步研究甲壳动物胚胎发育过程中神经系统的发生和发育, 并与幼体神经系统的发育及成体神经系统的结构相比较, 了解甲壳动物神经发生发育规律及其结构和功能, 应成为甲壳动物神经生物学研究的一重要方向。

致谢: 本文在华东师范大学堵南山教授指导下完成, 宁波大学尤仲杰教授、杭州师范学院方李宏同学在野外工作和实验室工作中提供帮助, 特此致谢!

参考文献:

Dove H, Stollewerk A. 2003. Comparative analysis of neurogenesis in the myriapod *Glomeris marginata* (Diplopoda) suggests more similarities to chelicerates than to insects [J]. *Development*, **130**: 2161-2171.

Du NS. 1987. Crustacean (1) [M]. Beijing: Science Press. [堵南山. 1987. 甲壳动物学 (上册). 北京: 科学出版社.]

Du NS. 1992. Crustacean (2) [M]. Beijing: Science Press. [堵南山. 1992. 甲壳动物学 (下册). 北京: 科学出版社.]

Harrison PJH, Sandeman DC. 1999. Morphology of the nervous system of the barnacle cypris larva (*Balanus amphitrite* Darwin) revealed by light and electron microscopy [J]. *Biol. Bull.*, **197**: 144-158.

Harzsch S. 2001. Neurogenesis in the crustacean ventral nerve cord: Homology of neuronal stem cells in Malacostraca and Branchiopoda [J]. *Evol. Dev.*, **3** (3): 154-169.

Harzsch S, Dawirs RR. 1993. On the morphology of the central nervous system in larval stages of *Carcinus maenas* L. (Decapoda, Brachyura) [J]. *Helgoländer Meeresuntersuch.*, **47**: 61-79.

Harzsch S, Dawirs RR. 1994. Development of the CNS in spider crab larvae [J]. *Zoea Newsletter*, **1** (2): 8-10.

Harzsch S, Miller J, Benton J, Dawirs RR, Beltz B. 1998. Neurogenesis in the thoracic neuromeres of two crustaceans with different types of metamorphic development [J]. *J. Exp. Biol.*, **201**: 2465-2479.

Islam MS, Rahman MA, Shokita S. 2004. Larval development of the mangrove sesarmid crab *Neosarmatium trispinosum* (Brachyura: Grapsoidea) described from laboratory-reared material [J]. *J. Crust. Biol.*, **24** (2): 356-371.

Liao YY, Yu B, Dong XX. 2001. Study on larval development of *Por-*

tunus pelagicus [J]. *J. Ocean. Taiwan Strait*, **20** (4): 533 - 546. [廖永岩，余 波，董学兴. 2001. 远海梭子蟹幼体发育的研究. 台湾海峡, **20** (4): 533 - 546.]

Sandeman DC. 1982. Organization of the central nervous system [A]. In: Ablee LG. The Biology of Crustacean, Vol. 3 [M]. New York: Academic Press. 1 - 61.

Sun YM, Yan Y, Sun JJ. 1984. The larval development of *Portunus trituberculatus* [J]. *J. Fish. Chin.*, **8** (3): 219 - 226. [孙颖民，闫 愚，孙进杰. 1984. 三疣梭子蟹的幼体发育. 水产学报, **8** (3): 219 - 226.]

Walley LJ. 1969. Studies on the larval structure and metamorphosis of *Balanus balanoides* (L.) [J]. *Philos. Trans. R. Sot. Land. B*, **256**: 237 - 279.

Williamson DI. 1982. Larval morphology and diversity [A]. In: Ablee LG. The Biology of Crustacea, Vol. 2 [M]. New York: Academic Press. 43 - 110.

Xue JZ. 1998. Studies on the morphology of the first zoea stage of *Portunus trituberculatus* by SEM [J]. *Zool. Res.*, **19** (5): 410 - 411. [薛俊增. 1998. 三疣梭子蟹第一期溞状幼体形态的扫描电镜观察. 动物学研究, **19** (5): 410 - 411.]

Xue JZ, Du NS, Lai W. 1998. Studies on the embryonic development of *Portunus trituberculatus* [J]. *Chin. J. Zool.*, **33** (6): 45 - 49. [薛俊增，堵南山，赖 伟. 1998. 三疣梭子蟹活体胚胎发育的观察. 动物学杂志, **33** (6): 45 - 49.]

Xue JZ, Du NS, Lai W. 2001a. Morphology of egg larvae of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) during embryonic development [J]. *Acta Zool. Sin.*, **47** (4): 447 - 452. [薛俊增，堵南山，赖 伟. 2001a. 三疣梭子蟹胚胎发育过程中卵内幼体形态. 动物学报, **47** (4): 447 - 452.]

Xue JZ, Du NS, Lai W. 2001b. Studies on the histology of early embryonic development of *Portunus trituberculatus* [J]. *Zool. Res.*, **22** (1): 69 - 73. [薛俊增，堵南山，赖 伟. 2001b. 三疣梭子蟹胚胎发育早期的组织学研究. 动物学研究, **22** (1): 69 - 73.]

Xue JZ, Du NS, Lai W. 2001c. The development of the digestive system of *Portunus trituberculatus* in the embryo [J]. *Zool. Res.*, **22** (5): 375 - 378. [薛俊增，堵南山，赖 伟. 2001c. 三疣梭子蟹胚胎发育过程中消化系统的发生和发育. 动物学研究, **22** (5): 375 - 378.]

“猕猴大脑神经元多单位电活动室外记录系统”简介

“猕猴大脑神经元多单位电活动室外记录系统”是中国科学院昆明动物研究所马原野、蔡景霞研究员两个学科组，于1999年依靠昆明动物所的条件研制发明的。其体积小、重量轻、抗干扰性强，由微型多道微电极和微电极推进器、微电极放大器、视频眼动记录仪、2.4 GM 微波数据传输仪、四分频视频信号合成仪、八合一神经信号单片机，以及行为、电生理数据记录系统等组成。该记录系统建立了灵长类动物在室外进行神经元多单位放电记录的技术，打破了电生理只能在实验室内进行的传统，为在自然环境下研究动物的脑与行为、各个脑区的相互功能，以及临床研究运动性神经病提供了一套崭新的方法。该记录系统于2004年获得国家知识产权局授予的国家发明专利（ZL00105039.7）。

“水迷宫大鼠脑内记录神经元放电的装置”简介

由中国科学院昆明动物研究所马原野、蔡景霞研究员两个学科组合作研制的“水迷宫大鼠脑内记录神经元放电装置”，于2004年获得国家知识产权局授予的发明专利，专利号为ZL00105040.0，第一发明人是该所的王建红同志。

水迷宫是啮齿类动物行为测试和认知药物筛选常用的方法，具可排除气味干扰等优点。本发明将之与神经元电活动记录技术相结合，既能从行为水平上评价药效，又可获细胞水平数据，从而了解药物作用的脑区和药物对神经元的影响，对提高药物筛选的科学性、客观性具重要意义。该实验装置由微型微电极放大器、微型微电极推进器和行为数据采集器以及计算机控制系统组成。系统体积小、重量轻、抗干扰性强、防水性能好。